Fonctions de L'APPAREIL DE GOLGI

O Glycosylation : concerne les protéines solubles et membranaires

Elle a lieu dans les saccules medians et trans et se déroule comme suit :

- Complexation d'un sucre (galactose , NANA…) a un nucléotide comme UDP(uridine diphosphate) dans le hyaloplasme
- déphosphorylation UDP en UMP sous l'action d'un nucléoside diP

-transfert du sucre par une O glycosyll transférase sur l'oxygène porte par serine ou thr de la protéine. Cette dernière est dite Oglycosylee (protéine mature)

***Remarque** : A la différence des oligosaccharides N lies les oligosaccharides O lies sont bâtis progressivement ose par ose sur la protéine.*

Phosphorylation des hydrolases acides R1: les hydrolases sont des glycoproteine

Elle a lieu dans les saccules cis et se déroule comme suit :

- une N acétyle glucosamine phospho transferase (GlcNacPtransferase) accroche un residu N acetyl glucosamine phosphatase(GlcNacP) au carbone 6 des mannoses : séquence signal de phosphorylation
- une N acétyle glucosamine phosphoglucosidase libère le GlcNac

Par la suite les enzymes porteurs de M6P (mannose 6 phosphate) sont transportes jusqu'au Glogi trans ou ils sont reconnus par le récepteur M6P (glycoprotéines transmb)

Les hydrolases fixées sur leur récepteur bourgeonnent du TGN sont adressées a endosome, vacuoles autophagique ou phagosomes (cas des macrophages).Vacuole autophagique = citerne du TGN qui englobe le matériel sénescent cellulaires (organites non fonctionnels:Golgi, mitochondrie …)

Sulfatation des protéines destinées à la matrice extracellulaire

Elle a lieu dans les saccules trans et se déroule comme suit :

- le PAPS (phospho adénosine phospho sulfate) synthétisé dans le hyaloplasme traverse la membrane du saccule par une perméase

-transfert du radical sulfate aux **sucres** ou a certains aa tel que la **tyr** de la protéine soluble **comme glycoaminoglycanes, protéoglycanes et glycoprotéines.**

Clivage protéolytique concerne hormones polypeptidiques et nombreux neuropeptides.

Ces molécules synthétisées sous forme de longues chaines peptidiques sont dépourvues d'activité biologique. Par l'action de peptidases elles deviennent biologiquement actives. Ex maturation de la pro insuline en insuline dans le trans Golgi, maturation qui se poursuit dans les grains de sécrétion.

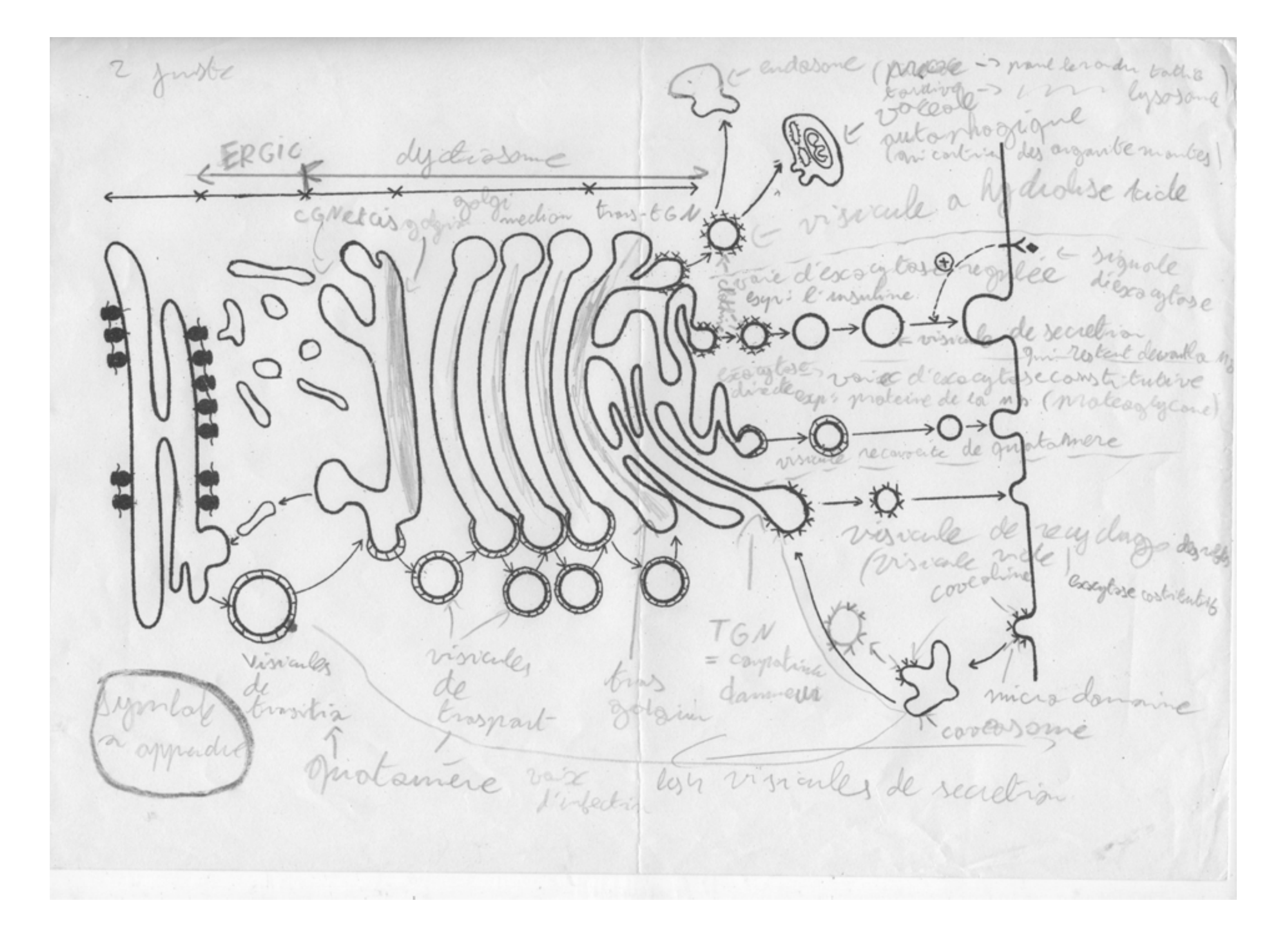
Autophagie

TGN contribue à englober le matériel sénescent par séquestration (mitochondrie, ribosomes.. .non fonctionnels) Par la suite des vésicules a hydrolases fusionnent pour hydrolyser le contenu. Les molécules issues de cette hydrolyse peuvent être restitues au hyaloplasme et recycles.

Réservoir de calcium

COMMUNICATIONS ENTRE LES DIFFERENTS COMPARTIMENTS DU SE

Elles reposent sur un flux bidirectionnel de vésicules. Celui de la voie de l'exocytose (biosynthèse et sécrétion), nomme flux mb vectoriel centrifuge. Celui de la voie endocytose (nutritive, infection, signalisation), nomme flux mb vectoriel centripète. Quelque soit le flux emprunte les transports entre les compartiments les V-SNAR du compartiment donneur et des T-SNAR du compartiment receveur pour l'arrimage des visicules (accrochage) schema 11 p70


2 juste
ERGIC
endosome
lysosome
vacuole autophagique
visicule a hydrolase acide
signale d'exocytose
voie d'exocytose reglée
exp : l'insuline
visicule de secretion
voie d'exocytose constitutive
exp : proteine de la m (proteoglycane)
exocytose directe
visicule recouverte de coatomere
visicule de recyclage
exocytose constitutive
micro domaine
caveosome
caveoline
TGN = compartiment d'anneaux
trans golgien
visicules de transport
visicules de transition
coatomere
voix d'infection
les visicules de secretion
golgi median
trans-TGN

LE SYSTEME ENDOMEMBRANAIRE [redacted]

[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	Près du noyau ; abondants dans cellules embryonnaires, mitotiques, cellules pancréatiques exocrines… - absent chez les hématies et procaryotes	Près du REG ; abondants dans cellules nerveuses et glandulaires - absent chez les hématies et procaryotes page 36 (37) et en coupe page 43	- A proximité de l'endosome et du TGN saccules golgiens -Abondantes dans cellules phagocytaires et glandulaires (pancréatiques, hépatiques..) - Absentes chez hématies et procaryotes.
	Cavités aplaties (citernes) ; canalicules et vésicules limitées par une membrane tristratifiée. Chaque citerne présente une face hyaloplasmique pourvue de ribosomes et une face luminale Certaines citernes sont en continuité avec l'enveloppe nucléaire	Ensemble de dictyosomes (20 en moyenne) et vésicules. Un dictyosome est un empilement de 4 à 10 saccules incurvés à bords dilatés limitées par une membrane tristratifiée ; les saccules sont séparés par une bande hyaloplasmique. la cavité interne d'1 saccule appelée lumière Cette organisation est assurée par les interactions membranes des saccules et MT, MF d'actine et protéines associées. MF —— MT Les drogues dépolymérisantes (colchicine) désorganisent l'appareil de Golgi. Chaque dictyosome est polarisé et subdivisé en 3 régions fonctionnelles : - **face Cis ou CGN ou proximale** (face d'entrée) alimentée par l'ERGIC à l'aide de vésicules et de tubules - **face médiane saccules médians** - **face trans ou distale** (face de sortie) qui correspond au dernier saccule du dictyosome ; il est en continuité avec le TGN. Les vésicules de taille variable sont classées en 2 types : - vésicules de transition provenant de l'ERGIC entre le REG et la face Cis -vésicules de transport situées sur la face trans et bourgeonnant du TGN recouvertes de clathrine ou de coatomères. * **Celles à revêtement de clathrine** sont classées en fonction de leur diamètre et de leur contenu en : - Vésicules de 200 à 400nm à contenu dense nommées *vésicules ou grains de sécrétion* ; elles sont destinées à *une exocytose régulée.* - Vésicules de 0.1 à 0.2 µm à contenu homogène appelées *vésicules à hydrolases* destinées au compartiment *endosomal* et évoluant en *lysosomes.* * **Celles à revêtement de coatomères** sont destinées à une exocytose constitutive.	Organite hyaloplasmique sphérique ou ovalaire limité par une cytomembrane et contenant dans sa matrice des enzymes dites hydrolases car actives en présence de molécules d'eau (pH acide).
[redacted]	Ce dernier saccule du REG face à l'AG ne porte pas de ribosomes (face lisse), il bourgeonne en vésicule de transition pour constituer l'ERGIC.		

Composition chimique	*Membranes*	Comme la membrane plasmique mais pauvre en glucides, cholestérol et riche en acides gras insaturés ce qui induit une importante fluidité membranaire. Les glucides sont présents sur la face luminale : asymétrie structurale [illegible] Protéines surtout enzymatiques : glycosyl transférases - glycosydases (N glycosylation) - PDI et BiP (acquisition de la configuration définitive)	Comme la membrane plasmique mais les glucides sont en quantité négligeable ; la fluidité est moins importante que REG. Les protéines membranaires spécifiques sont: - *Saccules Cis* : phosphotransférases (phosphorylation des enzymes lysosomales) - *Saccules trans* : nucléoside diphosphatase et glycosyl transférases (O glycosylation) ; sulfotransférases (sulfatation des composants de la matrice extracellulaire) et protéases (maturation des produits de sécrétion) - *TGN* : récepteurs M6P	Composée de lipides et une trentaine de protéines différentes ***en majorité glycoprotéiques portant sur leur domaine cytosolique un signal d'adressage à ce compartiment.*** Elles sont classées en 4 groupes : - des glycoprotéines structurales utilisées comme marqueurs de ce compartiment tel Lamp1, Lamp2 et Lamp 3, - des ATPases-H^+ dépendantes (pompes à protons) - des perméases d'importation - des perméases d'exportation (Schéma 12 couleur).
	Matrice	Contenu des cavités variable spécifique à chaque type cellulaire : -plasmocytes Ig -fibroblastes procollagène -acini pancréatique = protéines enzymatiques digestives	Contenu des cavités identique à celui du REG mais enrichi en polysaccharides	contient plus de 60 glycoprotéines enzymatiques solubles dites hydrolases différentes (protéases, des nucléases, des lipases..) ***portant du mannose 6 phosphate*** Elles sont capables de lyser toutes les molécules d'origine cytoplasmique ou absorbées par la cellule. Ces enzymes sont inactives à pH 7 (présence du manteau de clathrine) et deviennent actives lorsque le pH devient acide, 4 à 5 (absence du manteau).

Fonctions de L'APPAREIL DE GOLG

O Glycosylation : concerne les protéines solubles et membranaires (p 69)
Elle a lieu dans les saccules medians et trans et se déroule comme suit :
- Complexation d'un sucre (galactose , NANA…) a un nucléotide comme UDP(uridine diphosphate) dans le hyaloplasme
- déphosphorylation UDP en UMP sous l'action d'un nucléoside diPhosphatase
-transfert du sucre par une O glycosyll transférase sur l'oxygène porté par serine ou thr de la protéine. Cette dernière est dite Oglycosylée (protéine mature)

Remarque : A la différence des oligosaccharides N liés les oligosaccharides O liés sont bâtis progressivement ose par ose sur la protéine.

Phosphorylation des hydrolases acides
Elle a lieu dans les saccules cis et se déroule comme suit :
- une N acetyl glucosamine phospho transferase (GlcNacPtransferase) accroche un residu N acetyl glucosamine phosphatase(GlcNacP) au carbone 6 des mannoses : séquence signal de phosphorylation
- une N acetyl glucosamine phosphoglucosidase libère le GlcNac

Par la suite les enzymes porteurs de M6P (mannose 6 phosphate) sont transportes jusqu'au Glogi trans ou ils sont reconnus par le récepteur M6P (glycoprotéines transmb) (planche IV)
Les hydrolases fixées sur leur récepteur bourgeonnent du TGN sont adressées a endosome, vacuoles autophagique ou phagosomes (cas des macrophages).Vacuole autophagique = citerne du TGN qui englobe le matériel sénescent cellulaires (organites non fonctionnels Golgi, mitochondrie)

Sulfatation des protéines destinées à la matrice extracellulaire
Elle a lieu dans les saccules trans et se déroule comme suit :
- le PAPS (phospho adénosine phospho sulfate) synthétisé dans le hyaloplasme traverse la membrane du saccule par une permease
-transfert du radical sulfate aux sucres ou a certains aa tel que la tyr de la protéine soluble comme glycoaminoglycanes, protéoglycanes et glycoprotéines.

Clivage protéolytique concerne hormones polypeptidiques et nombreux neuropeptides.
Ces molécules synthétisées sous forme de longues chaines peptidiques sont dépourvues d'activité biologique. Par l'action de peptidases elles deviennent biologiquement actives. Ex maturation de la pro insuline en insuline dans le trans Golgi, maturation qui se poursuit dans les grains de sécrétion.

Autophagie
TGN contribue à englober le matériel sénescent (vieille) par séquestration (mitochondrie, ribosomes.. non fonctionnels) Par la suite des vésicules a hydrolases fusionnent pour hydrolyser le contenu. Les molécules issues de cette hydrolyse peuvent être restitués au hyaloplasme et recycles.

COMMUNICATIONS ENTRE LES DIFFERENTS COMPARTIMENTS DU SE

Elles reposent sur un flux bidirectionnel de vésicules. Celui de la voie de l'exocytose (biosynthèse et sécrétion) nomme **flux mb vectoriel centrifuge**. Celui de la voie endocytose (nutritive, infection, signalisation) nommé **flux mb vectoriel centripète**. Quelque soit le flux emprunte les transports entre les compartiments nécessitent des Vsnares du compartiment donneur et des Tsnares du compartiment receveur pour l'accostage ou l'arrimage des vésicules (voir schéma 11 couleur)

Descriptif du réticulum endoplasmique rugueux (REG) et ses fonctions :

Répartition cellulaire	Toutes les cellules eucaryotes, abondant chez les cellules embryonnaires, cancéreuses, acineuses…
Localisation cellulaire	Prés du noyau.
Techniques d'étude	MET, technique de coupes minces cytologiques, contraste positif.
Ultrastructure	- Ensemble de citernes entourées par des cytomembranes, et communiquent entre elles par des canalicules. - La MB du REG est en communication avec la Mb externe de l'enveloppe nucléaire, et la lumière est en communication avec l'espace inter-membranaire de l'enveloppe nucléaire. - La face cytoplasmique de la Mb du REG est attachée aux ribosomes - La face liminale est associée à des chaines glucidiques.
Technique d'isolement :	Homogénat cellulaire —3 UCD et 1 UGD→ microsomes rugueux + détergent —UCD→ culot de vésicules lisses du REG et un surnageant de ribosomes
Composition biochimique	1- <u>La membrane REG</u> : <u>Au MET</u> : tristratifiée, asymétrique et d'épaisseur 60 A°. <u>Composition</u> : *30% lipides* exp : dolichol. Avec un % ↓ en cholestérol, % ↑ en AG insaturés, la fluidité est ↑ *70% protéines* exp : complexe translocon, récepteur de l'SRP, peptidase signal, pompe ca++, canaux ca++ voltage et ligands dépendants, PDI (protéine dissulfo-isomerase), perméases, gluctosidases, N-glycosyl transférase… 2- <u>Lumière REG</u> : riche en ca++, protéines chaperonnes (Bip), PDI, protéases et le produit de synthèse.
Rôles :	1- <u>Synthèse et translocation des protéines solubles et membranaires</u>, se fait en plusieurs étapes : - Initiation de la synthèse dans le hyaloplasme à partir de polysomes libres, apparition de *<u>séquence signal</u>* à l'extrémité Nt. - Complexe SS-SRP (GTP), et arrêt de la synthèse dans le hyaloplasme, orientation du complexe « ribosome-ARNm-SRP-SS » vers la membrane du REG. - Association de la grande s/u ribosomale sur le translocon et l' SRP sur son récepteur. - L'SRP se détache de la SS, et est recyclé vers le hyaloplasme, reprise de la synthèse protéique. - Translocation de la protéine à travers le translocon de façon <u>CO-TRADUCTIONNELLE</u>. 2- <u>N-glycosylation</u> : modification *<u>co-traductionnelle</u>*, fixation d'oses dans *<u>la lumière</u>* du REG par le transfert d'un *<u>bloc de 14 oses</u>* sur l'*<u>N</u>* de *<u>l'Asn</u>* contenu dans une séquence : *<u>Asn-X-Ser (Thr)</u>*. Le bloc est formé sur le *<u>dolichol- p-p</u>*.

3-organisation de la séquence IIaire	a/ **BIP** (chaperonne) : assurent le repliement correct du peptide, protection les domaines hydrophobes. b/ **PDI** : Formation de ponts S-S : ➢ ***Les PDI membranaires*** : assurent la formation des ponts S-S de ***façon aléatoire*** entre les différentes Cys de la chaine. (co-traductionnelle) ➢ ***Les PDI liminales*** : assurent la ***correction des ponts établis par erreur*** et la ***formation de nouveaux ponts S-S***. (post traductionnelle) 4- **Contrôle de qualité** : des produits de synthèse grâce aux protéines BIP, les protéines qui ne sont pas bien structurées sont dégradées dans les ***proteosomes*** cytoplasmiques. → post-traductionnelle 5- **Stockage du ca++ :** le ca++ est libéré dans cytoplasme cellulaire par les canaux ca++ voltage et ligands dépendants. et récupéré dans le REG par les pompes ca++ ATP asiques.

Descriptif de l'appareil de golgi et ses fonctions :

Répartition cellulaire	Toutes les cellules eucaryotes, abondant dans les cellules nerveuses, glandulaires…
Localisation cellulaire	Prés du noyau et du REG.
Techniques d'étude	Microscope photonique, MET, techniques de coupes minces cytologiques, contraste positif.
Structure et ultrastructure	**Au m.ph** : ensemble d'écailles qui entour le noyau. **Au MET** : un appareil de golgi = ensemble de *dictyosomes* (20 par cellule), un dictyosome = empilement de *saccules incurvés* et stabilisés par les *microtubules* et les *microfilaments d'actine*, et entourés de vésicules. ✓ Chaque dictyosome est polarisé : - *Saccules Cis* (la face d'entrée est représentée par le réseau CGN). - *Saccules Trans* (la face de sortie est représentée par la face TGN). - *Saccules intermédiaires* (golgi médian). ✓ Chaque dictyosome est associe aux 03 types de vesicules : - *Vésicules de transition* : proviennent du REG et fusionnent avec le Cis golgien, recouvertes de coatomère. - *Vésicules de transport* : entre les saccules de golgi recouvertes de coatomère - *Vésicules de secretion* : bourgeonnent du TGN, recouvertes soit :

	➢ **De coatomère** : voie d'exocytose constitutive exp : les composants de la matrice extracellulaire, les protéines périphériques de la MbP ➢ **De clathrine** : voie d'exocytose régulée (grains de sécrétion, de diamètre ≈ 200 – 400 nm et contenu dense exp : l'insuline ou des vésicules à hydrolases acides (contenu homogène et de diamètre = 100 – 200 nm). ➢ **De caveoline** : voie de renouvèlement des microdomaines membranaires.
Technique d'isolement	Homogénat cellulaire —(3 UCD et 1 UGD)→ microsomes lisses.
Composition biochimique	**1- <u>La membrane des saccules</u>** : <u>Au MET</u> : tristratifiee, asymétrique et d'épaisseur varie entre 60A° et 75A° <u>Composition biochimique</u> : *30-40% de lipides*, taux d'AG insaturés et de CL intermédiaire entre celui de la Mb pl et celui de la Mb du REG. *60-70% de protéines*, exp : la sulfotransferase, récepteur du mannose 6P, la O-glycosyl transférase, phosphatase, perméases d'entrée, ... Un % faible de glucides, les chaines sont orientées vers la lumière des saccules **2- <u>Composition de la lumière</u>** : Ca++, produits de synthèse, des enzymes protéases…
Rôles :	1- **<u>Modifications post traductionnelles</u>** : a/ **<u>O-glycosylation</u>** : dans le golgi *<u>médian et trans</u>*, addition *<u>séquentielle d'oses</u>* par des enzymes *<u>O-glycosyl transférases</u>* sur l'*<u>oxygène</u>* d'une *<u>Thr ou Ser</u>* de la protéine, le 1[er] ose de la chaine est le *<u>Galactose</u>*. b/ **<u>Sulfatation</u>** : *<u>saccules trans</u>*, fixation d'un *<u>S</u>* donné par le *<u>PAPS</u>* sur la *<u>Tyr ou sur un ose</u>* de la glycoprotéine. Catalysée par la *<u>sulfotransferase.</u>* c/ **<u>Modification de la chaine d'oses</u>** des protéines N-glycosylées : fixation et élimination d'oses. O-glycosylées. 2- **<u>Tri, adressage et orientation des protéines synthétisées</u> exp : phosphorylation des glycoprotéines solubles (hydrolases acides), vers les endosomes, les lysosomes et les phagosomes, dans le Cis golgien grâce à 02 enzymes : { Glc Nac P transférase / Glc Nac P glucosidase** **Le tri se fait grâce à des récepteurs spécifiques pour le motif Mannose 6P dans les saccules TGN.** **<u>Remarque</u>** : ***le tri des protéines synthétisées se fait grâce à des séquences d'adressage reconnues par des récepteurs spécifiques.*** 3- **<u>Maturation des protéines</u>** synthétisées par clivage protéolytique qui transforme une protéine (précurseur) de PM élève et non fonctionnelle en une protéine fonctionnelle, à lieu dans les saccules *<u>trans et/ou dans les grains de sécrétion</u>*.

- trans
- grain de sécrétion
- trans + grain de sécrétion

(3)

Descriptif et fonctions des lysosomes

Répartition cellulaire :	Toutes les cellules eucaryotes (les globules rouges sont dépourvus de lysosomes).
Localisation cellulaire :	Dans le hyaloplasme.
Technique d'étude :	MET, techniques des coupes minces cytologiques et contraste positif.
Ultrastructure :	- Vésicules de taille variable de 0,2 – 0,5 µm de diamètre, et une matrice dense aux é. - Membrane d'épaisseur varie entre 60 A° à 100A°.
Technique d'isolement :	Homogénat cellulaire —(2UCD+1UGD)→ lysosomes + choc osmotique → culot (fragments membranaires) + surnageant (contenu de la matrice)
Composition biochimique	➢ **La membrane des lysosomes :** **Au MET** : tristratifiée, asymétrique et d'épaisseur 60A° à 100 A°, les chaînes glucidiques sont orientées vers la lumière. **Composition biochimique** : riche en protéines exp : glycoprotéines enzymatiques (phosphatase acide), glycoprotéines non enzymatiques (Lamp1, Lamp2, Lamp3), pompe H+ - ATPasique, perméases d'entrée et des perméases de sortie. ➢ **La matrice** : 60 types différents d'enzymes solubles : hydrolases acides (protéases, lipases, phosphatases, nucléases…), concentration élevée en H+ (pH = 5), eau, ions…et les matériaux à dégrader.
Rôles :	- Digestion cellulaire, la dégradation des corps étranger. - nutrition des cellules (±), et les substances nutritives libérées repartent vers le hyaloplasme pour être réutilisés dans la cellule.

Descriptif et fonctions du REL

Répartition cellulaire :	Dans toutes les cellules eucaryotes, abondant chez les cellules qui synthétisent et secrètent les hormones stéroïdes tel que la glande surrénale, les cellules de leydig des testicules…
Localisation cellulaire :	Près du noyau et du REG.
Technique(s) d'étude :	MET, techniques des coupes minces cytologiques et contraste positif.
Ultrastructure :	- ensemble de citernes limitées par des cytomembranes. - La face cytoplasmique de la membrane du REL est lisse (absence de ribosomes) - La face luminale est associée aux chaînes glucidiques (asymétrie structurale et biochimique)

Technique d'isolement : Homogénat cellulaire —(3 UCD + 1 UGD)→ microsomes lisses.

Composition biochimique

- ➢ <u>la membrane de REL</u> :

<u>Au MET :</u> membrane tristratifiée, asymétrique et d'épaisseur 60 A°.

<u>Composition biochimique</u> : 30% lipides : avec un % faible en cholestérol, % élevé en phospholipides à chaînes d'AG insaturés.
70 % protéines : exp : le cytochrome P450, complexes enzymatiques, flipases, perméases.

- ➢ <u>La lumière</u> : riche en Ca++, en enzymes…

Rôles :

<u>**1- stockage du Ca++**</u> : régulation de la concentration du Ca++ dans le cytoplasme par l'intermédiaire de 02 complexes protéiques :

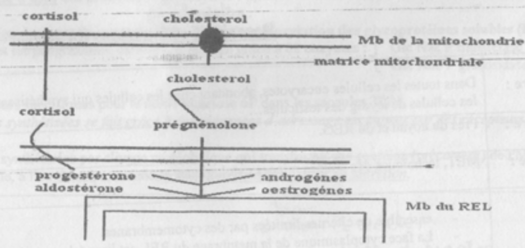
- ➢ Canaux Ca++ voltage et ligands dépendants.
- ➢ Pompes Ca++ ATPasiques.

<u>**2- synthèse des phospholipides et du cholestérol**</u> :

- ➢ la synthèse débute dans le hyaloplasme (avec intervention de la mitochondrie) des acides gras, glycérol et d'alcools (têtes polaires), ces molécules sont activées et transportées vers la membrane du REL.
- ➢ Assemblages des composants des phospholipides dans le feuillet cytoplasmique de la membrane du REL.
- ➢ Les flipases assurent le bascule (par mouvement flip-flop) de certains phospholipides vers le feuillet luminal de la membrane du REL (asymétrie biochimique).

<u>Devenir des phospholipides synthétisés</u> : ils seront adressés vers les membranes des organites (mitochondries, peroxysomes..) ou transformés en TG et stockés sous forme de gouttelettes lipidiques dans le hyaloplasme.

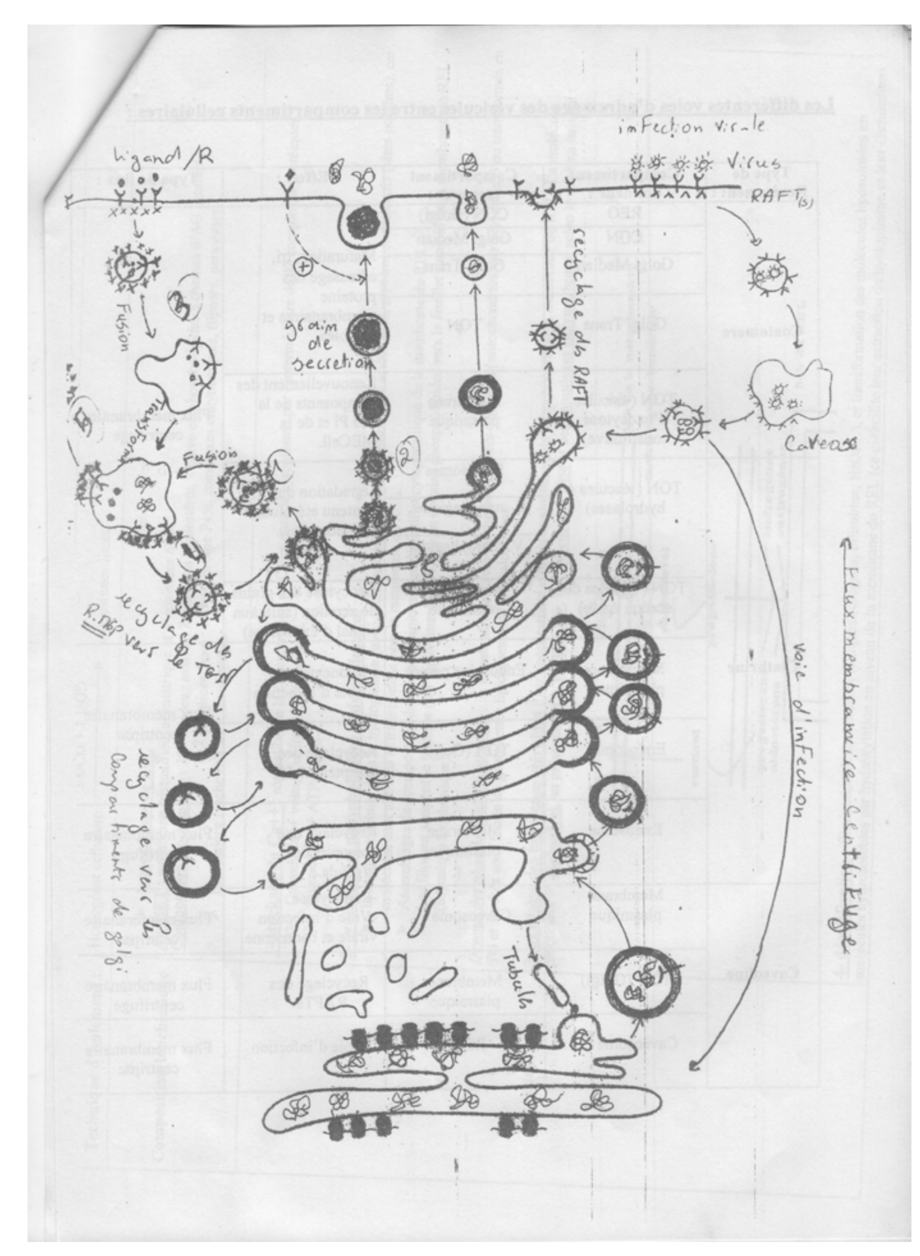
<u>**3- synthèse des hormones stéroïdes**</u> : par coopérativité entre le hyaloplasme, la mitochondrie et la membrane du REL. La molécule précurseur = <u>cholestérol</u>, en présence d'O_2, <u>NADH, H+</u>, le <u>Cytochrome P450</u> et des <u>complexes enzymatiques</u>, selon le schéma suivant :



<u>**4- détoxification**</u> : élimination des substances toxiques (drogues, bilirubine, H_2O_2…), et transformation des molécules liposolubles en molécules hydrosolubles par hydroxylation au niveau de la membrane du REL (ce ci facilite leur extraction du hyaloplasme et leur élimination).

Les différentes voies d'adressage des vésicules entre les compartiments cellulaires :

Type de Revêtement :	Compartiment donneur :	Compartiment receveur :	Effets :	Type de flux :
Coatomere	REG	CGN (Golgi)	Maturation, tri, adressage des proteine membranaires et solubles	Flux membranaire centrifuge
	CGN	Golgi Median		
	Golgi Median	Golgi Trans		
	Golgi Trans	TGN		
	TGN (vésicules d'exocytose constitutive)	Membrane plasmique	Renouvellement des composants de la Mb Pl et de la MECell.	
Clathrine	TGN (vésicules à hydrolases)	Endosomes	Dégradation du contenu et évolution en lysosomes.	
		V. autophagique		
		V. hétérophagique		
	TGN (vésicules de sécrétion régulée)	Membrane plasmique	Exocytose des grains de sécrétion (suite à un signal d'exocytose)	
	Membrane plasmique	Endosome précoce	- Endocytose - Voie d'infection	Flux membranaire centripète
	Endosomes	TGN (Golgi)	Recyclage des recepteurs M6P	
	Endosome	Membrane plasmique	Recyclage des récepteurs des Ligands.	Flux membranaire centrifuge
Caveoline	Membrane plasmique	Caveosome	-Endocytose -Voie d'infection virale et bactérienne	Flux membranaire centripète
	TGN (Golgi)	Membrane plasmique	Recyclage des RAFTs.	Flux membranaire centrifuge
	Caveosome	REG	Voie d'infection	Flux membranaire centripète



ligand/R
Fusion
Fusion
recyclage des R.Nép vers le TGN
recyclage vers les compartiments de golgi
grain de secretion
recyclage des RAFT
infection virale
Virus
RAFT(s)
Caveose
voie d'infection
Flux membranaire centrifuge
Tubule

Faculté de Médecine
Centre Biomédical – Dergana

Dimanche 13 Mai 2007

2ème Epreuve de Moyenne Durée
Cytologie & Physiologie

Nom :

Prénom :

N°:

2ème Epreuve de Moyenne Durée
Cytologie & Physiologie

Note

/20

QUESTION I : (8 pts)

1) **Le tableau suivant représente le trafic vésiculaire entre la membrane plasmique et certains compartiments du Système Endomembranaire. Complétez-le.**

Compartiments donneurs	Contenu de la matrice (Lumière) des vésicules à revêtement de :		
	Clathrine	Coatomères	Cavéoline
Membrane plasmique	LDL h. peptidique Toxine Tétanique	X	Virus
Endosome	Vésicule vide de recyclage d, recepteurs	X	X
REG	X	hydrolase lysosomale hormone peptidique composant de la matrice extra-C prot périphérique externe, enz digestive	X
TGN	- hydrolase lyso- - hormone peptidique - enz digestif - prot périphérique externe de la mbp	- composant de la matrice extra cellulaire - protéine périphérique externe de la mbp	Vésicule vide de recyclage d's rafts

Types cellulaires	Eléments du cytosquelette			
	Type	Protéine(s)	Localisation(s) possible(s)	Protéine(s) associée(s)
Cellule épithéliale	Microfilaments fins	* actine G,β * actine G,γ	* Axe d, M.V. * Cortex * ceinture d'adhérence	* fimbrine_villine M II * filamine, gelsoline * α-actinine, M I
	X	* M I	Entre la membrane plasmique et les faisceaux serrés des microvillosités. * Sous les MF d'Actine corticaux Transportent les vés d'exocytose	X
	* Micro Tubule	* Tubuline α et β.	* hyaloplasme.	MAP_2 * Kinesine * Dyneine
	Tonofilaments FI de cyto-kératine	* cytokératine	* Macula adhérence * hémi desmosome	X
	Filaments intermédiaires nucléaires	* Lamines A, B, C	* Contre la memb nucléaire interne de noyau de c épith.	X
Cellule musculaire striée	* MFA Myofilament fin A	* Actine F,G	Disque clair du sarcomère (I)	* Troponine * Tropomyosine * α-actinine
	Myofilament épais	* M II	* Disque Sombre de sarcomère (A)	X
	Microtubules	* Tubuline α et β	* hyaloplasme	X
	Filaments intermédiaires	* Vimentine * Desmine	* hyaloplasme	X
		* lamines A, B, C	* contre la memb nucléaire interne de noyau de c ...	X

LE SYSTEME ENDOMEMBRANAIRE : FONCTIONS

Fonctions du REG

1) Translocation des protéines solubles (non liées aux membranes)
- début de traduction d'un ARNm en protéine dans le hyaloplasme et synthèse d'un peptide signal
- reconnaissance du peptide signal par SRP (signal Recognition Particule) = formation d'un complexe SRP –peptide signal et arrêt de traduction
-fixation à un récepteur spécifique présent à la surface du REG (en présence de GTP)= adressage
- fixation de la grosse s/u ribosomale au translocon et reprise de la traduction
-activation du translocon après départ d'une Bip (Binding Protein) luminale et ouverture du canal
-allongement et engagement de la chaine polypeptidique dans la citerne tirée par d'autres Bip luminales
-insertion a la mb puis détachement par action de peptidases du signal (protéine soluble)
- parallèlement détachement et recyclage de SRP

Remarque :
Les protéines concernées par la translocation sont : protéines périphériques externes des cytomembranes ; composants de la matrice extracellulaire ; protéines destinées a l'excrétion comme hormones polypeptidiques, enzymes intestinales, pancréatiques neurotransmetteurs

2) Reservoir de Ca^{2+}

3) Elongation des protéines solubles
L'ARNm est traduit complètement par chaque ribosome ; c'est le phénomène d'élongation. Ainsi le même ARNm peut être traduit en plusieurs exemplaires.

4) NGlycosylation : concerne les protéines solubles et membranaires
-accrochage de 14 sucres au dolichol : 2 NANA + 9 mannoses + 3 glucoses l'ensemble des sucres => arborisation sucrée
-Flip flop et bascule du dolichol
- transfert en bloc des sucres sur N de ASn –X-Ser ou Asn- X-Thr (séquence consensus de N glycosylation) grâce N glycosyl transférases
-Elagage de 4 sucres (1 glucose et 3 mannoses) grâce aux glycosidases.
la glycosylation : est co-traductionelle / on peut avoir plusieurs chaînes glucidiques sur une même protéine en fonction de Asn-X-Ser / Asn-X-Thr

5) Acquisition de la configuration définitive en trois D
Pendant la translocation les Bip assurent des repliements des protéines pour préparer leur configuration tertiaire.
Parallèlement des ponts disulfures s'établissent au hasard. Les PDI (protéines disulfures isomérases) luminales corrigent les liaisons en catalysant les bons ponts disulfures = phénomène post traductionnel.
Une protéine malconfigurée va etre translocée vers le hyaloplasme pour être détruite par "protéasome"

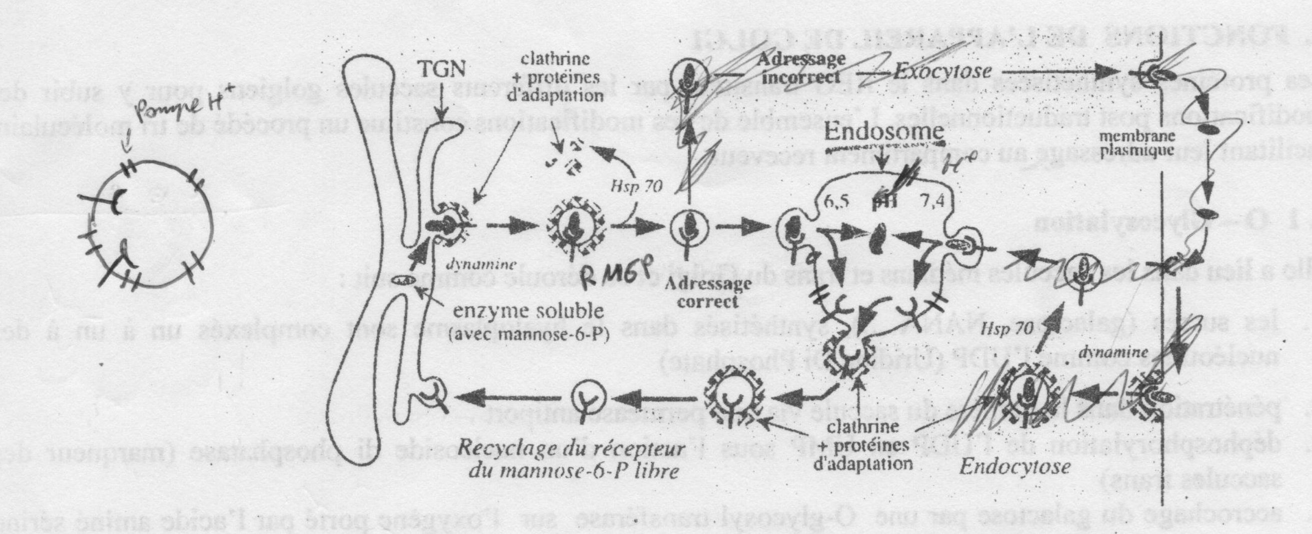


Planche IV: adressages des hydrolases par phosphorylation du mannose 6

C/ COMMUNICATION ENTRE LES DIFFERENTS COMPARTIMENTS DU SYSTEME ENDOMEMBRANAIRE

Le transport des macromolécules entre les différents compartiments du SEM (le RE, les saccules Golgiens, l'endosome et les vacuoles autophagiques ou vacuoles héterophagiques des cellules phagocytaires) repose sur un flux bidirectionnel de vésicules (**Planche II**).

Celui de la voie de l'exocytose (biosynthèse – sécrétion) est nommée flux membranaire vectoriel permanent centrifuge.

Celui de l'endocytose (nutritive, de signalisation ou d'infection) est nommé flux membranaire vectoriel permanent centripète.

Quelque soit le flux emprunté, les transports entre deux compartiments nécessitent trois étapes successives:

1- la formation d'un bourgeon à la membrane du compartiment donneur,

2- la formation d'une vésicule par pincement du bourgeon. Ceci permet d'isoler une fraction luminale du compartiment donneur ainsi que les composants membranaires.

3- l'accostage (arrimage) de la vésicule au compartiment accepteur avec lequel elle fusionne. La fusion fait intervenir des protéines membranaires dites v- SNAREs qui reconnaissent leurs récepteurs protéiques spécifiques dits t- SNAREs localisés dans les membranes du compartiment receveur (**Schéma 11**). La vésicule déverse alors son contenu dans le compartiment accepteur et sa membrane sera intégrée à ce dernier.

D/ LES MANTEAUX OU REVETEMENTS VESICULAIRES

Les vésicules issues des différents compartiments du RE, des saccules Golgiens ou de la membrane plasmique sont recouvertes d'un manteau protéique cytosolique. Celui-ci conduit localement à la déformation mécanique des membranes vésiculaire et leur adressage aux compartiments receveurs.

Trois types de revêtements ont été étudiés chez les cellules Eucaryotes :

revêtement de clathrine, revêtement de coatomères, revêtement de cavéoline.

4. FONCTIONS DE L'APPAREIL DE GOLGI

Les protéines synthétisées dans le REG transitent par les différents saccules golgiens pour y subir des modifications post traductionnelles. L'ensemble de ces modifications constitue un procédé de tri moléculaire facilitant leur adressage au compartiment receveur.

4. 1 O – Glycosylation

Elle a lieu dans les saccules médians et trans du Golgi et se déroule comme suit :

1. les sucres (galactose, NANA….), synthétisés dans le hyaloplasme sont complexés un à un à des nucléotides comme l'UDP (Uridine Di Phosphate)
2. pénétration dans la lumière du saccule via une perméase antiport
3. déphosphorylation de l'UDP en UMP sous l'action d'un nucléoside di phosphatase (marqueur des saccules trans)
4. accrochage du galactose par une O-glycosyl transférase sur l'oxygène porté par l'acide aminé sérine ou thréonine de la protéine. Ceci correspond à une maturation de la protéine N-glycosylée ***(Schéma 9 couleur).***

Comme la N- glycosylation, la O- glycosylation concerne aussi bien les protéines solubles que les protéine transmembranaires sur leur domaine luminal.
A la différence des oligosaccharides N- liés, les oligosaccharides O- liés sont bâtis progressivement ose par ose sur la protéine

4.2 Phosphorylation

Au niveau des saccules Cis du Golgi les protéines solubles glycosylées destinées aux endosomes ou aux vacuoles autophagiques ou hétérophagiques (phagosomes), doivent subir une phosphorylation indispensable à leur maturation en enzymes digestives dites hydrolases acides.

Cette phosphorylation se produit en 2 étapes :
- une N-acétyl-glucosamine phospho-transférase (GlcNac-P-transférase) accroche un résidu N-acétyl-glucosamine-phosphatase (GlcNac-P) au carbone 6 des résidus mannose : séquence signal de phosphorylation.
- une deuxième enzyme, la N-acétyl-glucosamine phospho-glucosidase libère le GlcNac.

Par la suite les enzymes porteurs de mannose-6-Phosphate sont transportés jusqu'au Golgi Trans où ils sont reconnus par une glycoprotéine transmembranaire: le récepteur du mannose-6-P (M6P).
- les enzymes lysosomales fixées à leurs récepteurs bourgeonnent du TGN sont adressées au compartiment endosomal ou aux vacuoles digestives (**Planche IV**).

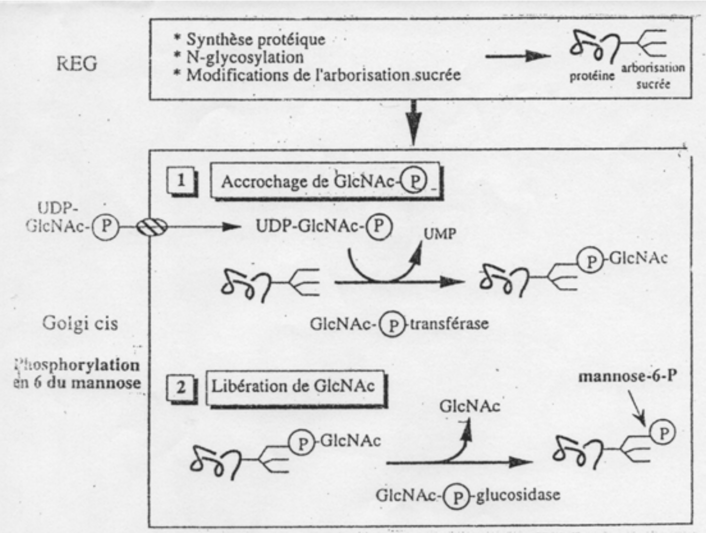
4.3 Sulfatation

Cette réaction fait appel à des sulfo-transférases et se produit dans les saccules trans.

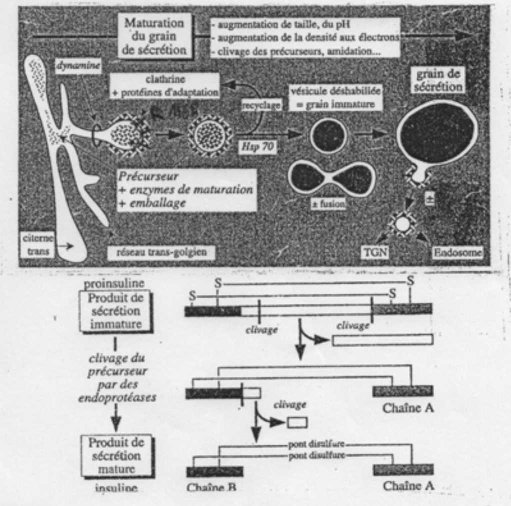
Le donneur de sulfate, le phospho-adénosine-phospho-sulfate (PAPS), est synthétisé dans le hyaloplasme et pénètre dans la lumière des saccules golgiens par une perméase.
Le radical sulfaté, est par la suite transféré aux sucres ou à certains acides aminés tel la tyrosine.
La sulfatation concerne des composants destinés à la matrice extracellulaire comme les glycoprotéines les protéoglycannes et les glycosaminoglycannes .

4.4 Clivage protéolytique

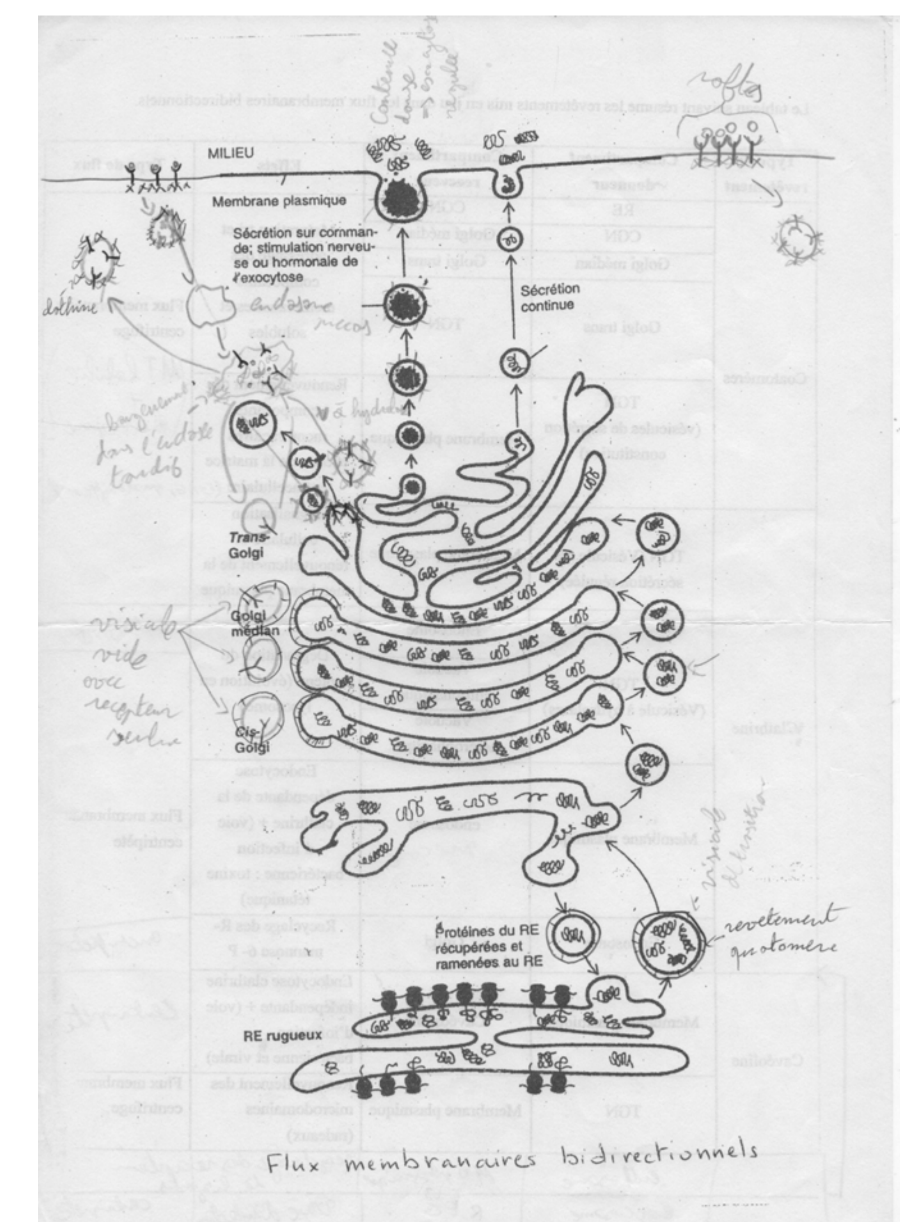
Ce processus est nécessaire à l'activation de nombreuses hormones polypeptidiques et la quasi totalité des neuropeptides. En effet ces molécules synthétisées sous forme de longues chaînes peptidiques sont dépourvues d'activité biologique. Par l'action des peptidases, ces molécules deviennent biologiquement actives. Ex : Dans le pancréas endocrine la maturation de la pro insuline en insuline est initiée dans le trans Golgi et se poursuit dans les grains de sécrétion **(Schéma 10)**.



Phosphorylation des Hydrolases acides



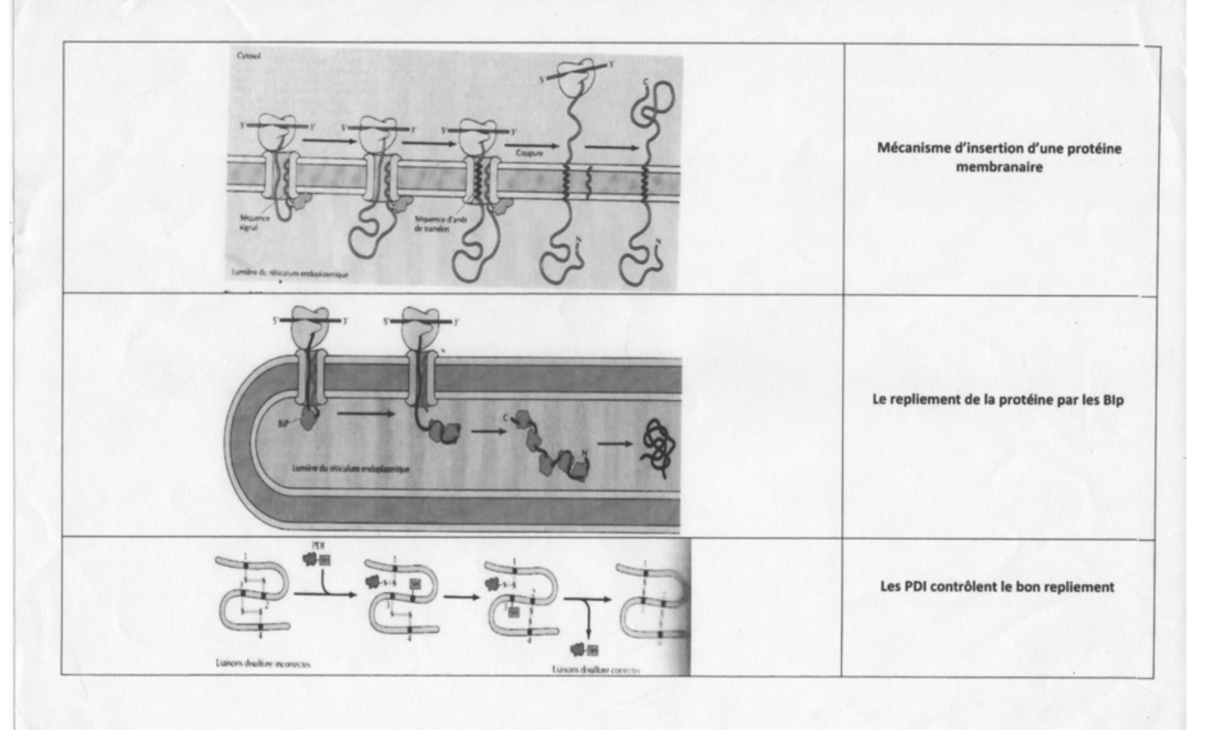
Maturation des produits de sécretion par clivage protéolytique.



Flux membranaires bidirectionnels

Le tableau suivant résume les revêtements mis en jeu dans les flux membranaires bidirectionnels.

Type de revêtement	Compartiment donneur	Compartiment receveur	Effets	Type de flux
Coatomères	RE	CGN	Maturation tri et adressage des composants membranaires et solubles	Flux membranaire centrifuge (MT soluble + [illegible])
	CGN	Golgi médian		
	Golgi médian	Golgi trans		
	Golgi trans	TGN		
	TGN (vésicules de sécrétion constitutive)	Membrane plasmique	Renouvellement des composants membranaires et ceux de la matrice extracellulaire (GAG, protéoglycanes)	
	TGN (Vésicule de sécrétion régulée)	Membrane plasmique	Signalisation cellulaire et renouvellement de la membrane plasmique	
Clathrine	TGN (Vésicule à hydrolases)	Endosome	Dégradation du contenu (évolution en lysosome)	centrifuge
		Vacuole autophagique		
		Vacuole hétérophagique		
	Membrane plasmique	endosome recolt	Endocytose dépendante de la clathrine + (voie d'infection bactérienne : toxine tétanique)	Flux membrana... centripète
	Endosome	Golgi	Recyclage des R-mannose 6- P	centripète
Cavéoline	Membrane plasmique	Cavéosome	Endocytose clathrine indépendante + (voie d'infection bactérienne et virale)	centripète
	TGN	Membrane plasmique	Renouvellement des microdomaines (radeaux)	Flux membran... centrifuge
	endosome	Mb plasmique	recyclage des récepteurs de ligands	
	cavéosome	REG	voie d'infect.	centripète



Cytosol
Coupure
Séquence signal
Séquence d'arrêt de transfert
Lumière du réticulum endoplasmique
Mécanisme d'insertion d'une protéine membranaire
BiP
Lumière du réticulum endoplasmique
Le repliement de la protéine par les BIp
PDI
Liaisons disulfure incorrectes
Liaisons disulfure correctes
Les PDI contrôlent le bon repliement